

一氧化氮试剂盒（酶法）



目录号

THE0099

规格

50Tests

北京四正柏生物科技有限公司

一、原理

NO 化学性质活泼，与分子氧反应生成 NO_2 ，转化为 NO_3^- 和 NO_2^- ， NO_2^- 在一小时内有 95% 转化为 NO_3^- ，故仅测定血清 NO_2^- 作为 NO 水平存在准确度差。目前以血清 NO_3^- 、 NO_2^- 浓度之和作为 NO 生成的良好指标。本盒用硝酸还原酶特异性地将 NO_3^- 还原为 NO_2^- ， NO_2^- 与显色剂作用生成有色物质，通过显色深浅测定其浓度的高低，OD 值大小代表 NO 水平。

二、试剂盒组成与配制

1. 试剂 1 磷酸盐缓冲液 1 瓶，6.0ml。
2. 试剂 2 硝酸还原酶 3 瓶（冻干品），测定前每瓶用 2.0ml 双蒸水复溶，混匀，为悬浮液，未用完的酶液放 -20°C 。
3. 试剂 3 1 瓶，30ml。
4. 试剂 4 1 瓶，30ml。
5. 试剂 5 KNO_3 标准液 1 支， $100.0 \mu\text{mol/L}$ ，1ml。

三、操作

	测定管	标准管	空白管
样品	0.1ml	-	-
KNO_3	-	0.1ml	-
双蒸水	-	-	0.1ml
试剂 1	0.1ml	0.1ml	0.1ml
试剂 2	0.1ml	0.1ml	0.1ml

轻轻混匀， 37°C 水浴 1 小时

试剂 3	0.5ml	0.5ml	0.5ml
试剂 4	0.5ml	0.5ml	0.5ml

混匀，室温放置 10 分钟后，530nm 波长，0.5cm 比色杯，空白管调零，分别读取测定管和标准管 OD 值。

按下式计算：

$$\text{一氧化氮} (\mu\text{mol/L}) = \text{测定管 OD} / \text{标准管 OD} \times 100 \mu\text{mol/L}$$

计算举例：取正常人血清 0.1ml 进行检测，结果如下：

标准管吸光度 0.120，测定管吸光度 0.085，则

$$\text{NO} (\mu\text{mol/L}) = 0.085 / 0.120 \times 100 = 70.8 \mu\text{mol/L}$$

参考值：人血清（浆）NO 浓度为 $50 - 110 \mu\text{mol/L}$ $\bar{X} \pm \text{SD} = 73.6 \pm 17.2 (\mu\text{mol/L})$
N=40)

四、注意点

- 测尿液时要进行 20 倍稀释。
- 组织匀浆一般为 10%，制备方法：取 100mg 组织加 0.9ml 生理盐水，匀浆，10000rpm 离心 10 分钟，取上清液，沸水浴 3 分钟，10000rpm 离心 5 分钟，留取上清液。取 0.1ml 上清液检测。
- 血清(浆)、脑脊液、腹水、胸水、细胞培养上清液，直接取 0.1ml 检测。
- 血清(浆)如不马上检测，应放于-20℃或普通冰箱冷冻保存，半年内有效。
- 试剂盒 4℃冰箱保存，半年内有效。试剂 2 请 - 20° 冰箱保存。
- 血清标本看上去比标准管低，但比色结果并不比标准管低，这是正常现象，因为标本血清遮蔽了部分显色强度。